

شناسایی و بررسی بیماری‌زایی گونه‌های قارچی همراه با بیماری لکه برگ *Cucumis sativus* L. خیار در استان آذربایجان شرقی

فاطمه اقبالی^۱، اسدالله بابای اهری^{۲*} و مهدی ارزنلو^۲

۱- دانشجوی کارشناسی ارشد بیماری شناسی گیاهی، گروه گیاهپزشکی، دانشگاه تبریز.

۲- به ترتیب استاد و دانشیار گروه گیاهپزشکی دانشگاه تبریز.

*مسئول مکاتبه ababaiahari@yahoo.com

تاریخ دریافت: ۹۴/۷/۵ تاریخ پذیرش: ۹۵/۱/۲۸

چکیده

بیماری لکه‌برگی بعنوان یکی از بیماری‌های محدودکننده‌ی تولید محصول خیار در استان آذربایجان شرقی شناخته شده است و همه ساله خسارت زیادی به این محصول و جالیزکاران وارد می‌نماید. هدف تحقیق حاضر شناسایی عامل بیماری لکه‌برگی خیار *Cucumis sativus* L. در استان آذربایجان شرقی و شناسایی گونه‌های قارچی بیمارگر با استفاده از داده‌های مورفولوژیکی می‌باشد. برای این منظور در طی تابستان سال ۱۳۹۲ از مزارع خیار دارای علائم در شهرستان‌های شبستر، اهر، میانه و باسمنج که از مراکز مهم تولید خیار در استان هستند، نمونه‌برداری به عمل آمد و از تعداد ۹۰ نمونه گیاهی تهیه شده که دارای علائم متنوع لکه برگ بودند، تعداد ۱۰۰ جدایه‌ی قارچی جدا سازی گردید. نتایج این تحقیق حضور انواع گونه‌های مختلف قارچی عامل لکه‌برگی را در مزارع استان تایید می‌کند. با مطالعات ریخت‌شناختی جدایه‌های بدست آمده، گونه‌های قارچی *Bipolaris Bipolaris spicifera Alternaria tenuissima*، *Nigrospora oryzae*، *Cladosporium sp.*، *Alternaria atrum*، *Stemphylium mali sorkiniana*، *Pseudoprenospora cubensis*، *Phoma sp.* و *Curvularia sp.* به عنوان عوامل ایجاد لکه برگ خیار جداسازی شدند. در بین گونه‌های شناسایی شده، فراوانی جدایه‌های *Alternaria tenuissima* و *Pseudoprenospora cubensis* بترتیب با ۴۸ درصد و ۱۳ درصد بیشتر از بقیه بود. تمام جدایه‌های مورد بررسی قادر به ایجاد بیماری در بوته‌های خیار مایه زنی شده بودند.

واژه‌های کلیدی: آذربایجان شرقی، لکه برگ قارچی خیار، *Pseudoprenospora Alternaria*

در سال یکی از مهم‌ترین قطب‌های تولید خیار بشمار می‌رود (آمار نامه کشاورزی ۱۳۹۰).

بیماری‌های زیادی همه‌ساله تولید این گیاه را تهدید می‌کنند. از جمله این بیماری‌ها می‌توان به موزایک خیار، سفیدک درونی و بوته میری، سفیدک سطحی و لکه-برگی‌های خیار اشاره کرد (اعتباریان ۱۳۷۶).

در پی گسترش کشت خیار در مزارع و گلخانه‌ها بیماری‌های لکه‌برگی نیز بعنوان یکی از فاکتورهای محدودکننده‌ی تولید محصول خیار شناخته شده و همه ساله خسارت زیادی به این محصول و جالیزکاران وارد می‌نماید. گروه‌های قارچی متعددی در ایجاد بیماری لکه برگ خیار دخیل هستند. بیماری لکه برگ که توسط

خیار (*Cucumis sativus* L.) گیاه زراعی با $2x=2n=14$ کروموزوم، گیاهی یکساله دوجنسی، یکپایه و دولپه‌ای متعلق به تیره کدویان می‌باشد. این گیاه جزو اقتصادی‌ترین گیاهان تیره کدویان می‌باشد. خاستگاه خیار شبه قاره هند ذکر شده است. این صیفی بیش از ۵۰۰۰ سال تاریخ مکتوب دارد (آمارنامه زراعی، ۱۳۸۴) سطح زیر کشت خیار در جهان بیش از ۸۶۰۰۰۰ هکتار با تولید سالانه ۱۳۱۴۲۰۰۰ تن است که ۶۳۶۵۲ هکتار آن با ۱/۸ میلیون تن تولید مربوط به ایران است. استان آذربایجان شرقی با ۲۲۴۲ هکتار زیر کشت و ۵۰۷۹۶ تن

بوته خیار می‌شوند و از طریق کاهش سطح سبز و فتوسنتز باعث کاهش کمیت و کیفیت محصول می‌گردند. با توجه به اهمیت تولید خیار در ایران به ویژه استان آذربایجان شرقی، شناسایی عوامل بیماری‌زای آن بویژه عوامل دخیل در بیماری‌های لکه برگ به منظور توسعه‌ی روش‌های مناسب مدیریتی و افزایش عملکرد در واحد سطح از اهمیت بسزایی برخوردار است. در این تحقیق تلاش گردید تا قارچ‌های عامل لکه برگ در مناطق مختلف استان آذربایجان شرقی جداسازی و با استفاده از روش‌های ریخت‌شناختی مورد شناسایی قرار گیرند.

مواد و روش‌ها

در ماه‌های تیر و مرداد سال ۱۳۹۲ نمونه‌های برگ‌ی مشکوک به آلودگی قارچی از مزارع شهرستان‌هایی که تولید خیار در آنها بسیار رایج است، بصورت تصادفی از بیست و سه مزرعه شامل دوازده مزرعه در شهرستان شهرستان شبستر، پنج مزرعه در شهرستان اهر، سه مزرعه در شهرستان باسمنج و سه مزرعه در شهرستان میانه جمع‌آوری گردید. سپس هرکدام از نمونه‌ها بطور جداگانه درون پاکت‌های کاغذی تازه به آزمایشگاه منتقل شد و برای جلوگیری از رشد عوامل ساپروفیت ثانوی، پس از انتقال به آزمایشگاه مورد بررسی قرار گرفتند. بدین صورت که بخش‌های آلوده در زیر بینوکولر بررسی و در صورتی که علایم با اسپوره‌های قارچ همراه بود، جداسازی و خالص‌سازی قارچ به روش تک اسپور انجام گرفت. برای این کار حدود ۱۰ میلی‌لیتر آب مقطر استریل به داخل تشتک پتری حاوی محیط‌کشت سیب-زمینی دکستروز آگار (PDA) حاوی ۰/۲ درصد اسیدلاکتیک اضافه شد. در زیر استریومیکروسکوپ، اسپوره‌های قارچ توسط سوزنی ظریف و سترون از روی لکه‌ها برداشته شدند و به طور کامل در داخل آب موجود در تشتک پتری پخش گردیدند. تشتک‌های پتری به مدت ۲۴ ساعت به حالت مورب در دمای اتاق $20-22^{\circ}\text{C}$ نگهداری شدند. سپس تشتک‌ها زیر بینوکولر بررسی شده و اسپوره‌های جوانه‌زده همراه با قطعه کوچکی از محیط غذایی اطراف آن توسط سوزن سترون به محیط‌کشت جدید PDA منتقل شدند. نمونه‌های برگ مشکوک به آلودگی قارچی و فاقد اسپور قارچ، ابتدا

گونه *Pseudoperonospora cubensis* ایجاد می‌شود، جزء بیماری‌های مخرب خیار می‌باشد که از پراکنش وسیعی در مناطق تحت کشت خیار در جهان برخوردار است. این بیماری تحت عنوان سفیدک درونی یا سفیدک کرکی خیار شناخته شده است و در بیش از ۷۰ کشور و روی بیش از ۵۰ گونه متعلق به ۲۰ جنس گیاهی تیره کدویان فعالیت دارد (لبدا و اوربان ۲۰۰۷) و منجر به خسارت اقتصادی در کشورهای امریکایی، اروپائی و چین می‌گردد (توماس ۱۹۹۶). کاهش محصول در مزارع خیار آلوده به این بیماری بطور متوسط ۶۱٪ برآورد شده است (رنجبر و همکاران ۱۳۸۷). بیماری سفیدک کرکی در ایران در سال ۱۳۴۲ توسط اسکندری (۱۳۴۳) از مزارع شمالی کشور گزارش گردید و در سال ۱۳۵۹ در مزارع جالیز اصفهان مشاهده شده است (جلالی و همکاران ۱۳۷۱).

از عوامل قارچی دیگر، گونه‌های *Alternaria* را می‌توان نام برد که روی گیاهان صیفی بسیار مخرب بوده (آسلان ۲۰۱۰) و منجر به نابودی عمده سبزیجات و محصولات مهم اقتصادی می‌شود (مامگاین و همکاران ۲۰۱۳). دو گونه *A. cucumerina* و *A. alternata* نیز جزء گونه‌های رایج ایجادکننده‌ی لکه برگ خیار هستند. آلودگی خیار به این گونه‌های قارچی از بیشتر کشورهای گزارش شده است (کوهن و روت ۱۹۸۷). خسارت وارده به اندام‌های هوایی توسط این بیماری بسته به نوع میزبان متنوع است بطوریکه روی کدوتنبل ۸۰ درصد و هندوانه و خیار ۸۸ درصد از هندوستان گزارش شده است (بهاراگاو و سینگ ۱۹۸۵).

از دیگر گروه‌های قارچی که باعث بیماری لکه برگ‌ی در خیار می‌شوند می‌توان به سایر گونه‌های جنس *Alternaria* *Cladosporium* *Corynespora*، *Cercospora citrullina*، *cucumerinum*، *Colletotrichum orbiculare*، *Phoma sp.*، *cassicola*، *Ulocladium*، *Stemphylium cucurbitacearum* اشاره کرد (ارشاد، ۲۰۰۹).

این گونه‌های قارچی باعث ایجاد لکه برگ‌ی بر روی برگ‌ها و نیز ایجاد بیماری در میوه و سایر اندام‌های

توسط قارچ شناسان مختلف در زمینه هر یک از جنس-های قارچی اعمال شد.

اجرای اصول کخ و اثبات بیماریزائی

اثبات بیماریزائی جدایه های تهیه شده در تابستان ۱۳۹۳ در یکی از واحد های گلخانه ای گروه گیاهپزشکی دانشکده کشاورزی تبریز با دمای ۲۷-۲۵ درجه سانتیگراد و چرخه‌ی نوری: تاریکی ۱۶-۸ ساعت بر روی گیاهان دو تا سه برگه رقم MP73 خیار که با استفاده از سوسپانسیون اسپور حاوی 10^6 اسپور در میلی لیتر از هر کدام از گونه های قارچی مایه زنی شده بودند، در سه تکرار انجام پذیرفت. برای مایه زنی گیاهان شاهد از آب مقطر استریل استفاده شد. علایم آلودگی ۱۰-۴ روز بعد از مایه زنی بررسی و قطعاتی از لکه برگی های تولید شده برای جدا سازی مجدد قارچ عامل بیماری بر روی محیط کشت PCA منتقل گردید.

نتایج

انواع مختلف لکه برگی‌ها از روی برگ‌های نمونه-برداری شده مشاهده گردید (شکل ۱). نتایج بررسی، نشانگر تنوع عوامل قارچی لکه برگی بود، طوری که در مجموع ۱۰۰ جدایه قارچی به عنوان عوامل لکه برگی روی خیار جداسازی و خالص سازی شدند که در بین قارچ‌های جداسازی شده گونه‌ی *Alternaria tenuissima* از فراوانی بالاتری برخوردار بود و در مجموع ۴۸ جدایه (۴۸ درصد) به این گونه تعلق داشتند (شکل ۲).

Alternaria tenuissima (Kunze) Wiltshire, Trans. Br. mycol. Soc. 18(2): 157 (1933)

این گونه با استفاده از کلید شناسایی گونه‌های *Alternaria* شناسایی و توصیف شد (سیمونس ۲۰۰۷). پرگنه‌ی جدایه‌های مختلف *Alternaria tenuissima* در محیط غذایی PCA تنوع بالایی از نظر رنگ، سرعت رشد و تولید ریشه‌های هوایی و نحوه‌ی اسپورزایی از

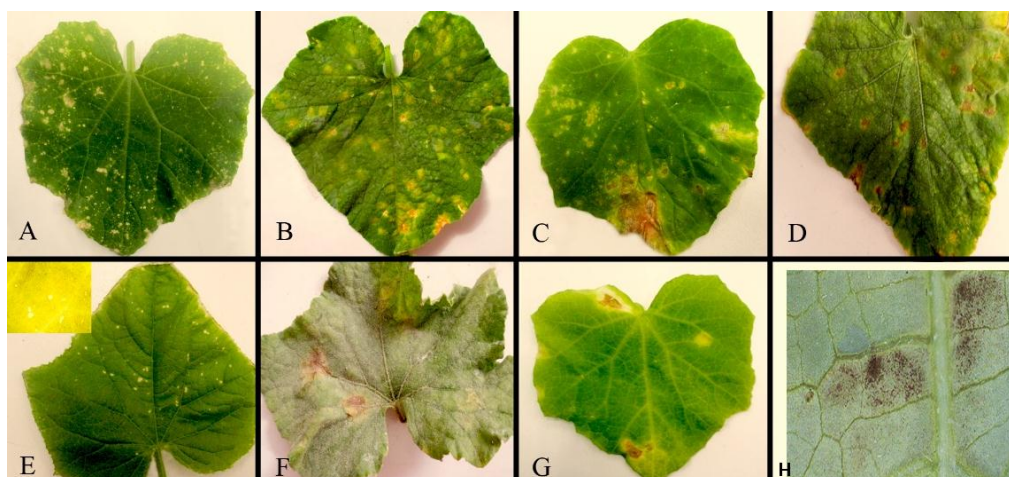
بمدت ۳-۴ دقیقه توسط آب شسته شدند تا هرگونه آفت احتمالی موجود در روی برگ حذف گردد. سپس از حد فاصل بخش آلوده و سالم، قطعات کوچک به اندازه تقریبی ۲×۲ میلی‌متر برش داده شد. این قطعات توسط اتانول ۷۰ درصد بمدت ۲۰ ثانیه در شرایط سترون و زیر هود آزمایشگاهی، ضدعفونی سطحی و بلافاصله دو بار با آب مقطر سترون شستشو داده شدند. قطعات بر روی کاغذ صافی سترون آب گیری و به محیط غذایی PDA منتقل شدند. تشتک های حاوی نمونه‌های برگ‌ی ضمن نگهداری در انکوباتور با دمای ۲۵ درجه سانتیگراد، بطور روزانه زیر بینوکولر بررسی شدند و پرگنه‌های رشد کرده در آنها به روش تک‌اسپور یا نوک ریشه، خالص‌سازی شدند. پس از خالص‌سازی برای نگهداری طولانی تر، جدایه‌ها به میکرولوله‌های حاوی محیط کشت ضعیف PCA؛ (۲۰ گرم سیب‌زمینی، ۲۰ گرم هویج، ۲۰ گرم آگار، ۱۰۰۰ میلی‌لیتر آب مقطر) انتقال داده شدند و جهت جلوگیری از آلودگی، درب میکرولوله‌ها با پارافیلیم بطور دقیق مسدود و بعد از کد گذاری به یخچال چهار درجه منتقل گردیدند.

در مورد گونه *P. cubensis* که یک گونه پارازیت اجباری است از اپیدرم تحتانی برگ های آلوده با استفاده از یک سوزن نوک تیز، اسپرانژیوم های تیره رنگ که در زیر بینوکلر قابل رویت بودند، برداشته شد و اسلاید میکروسکوپی با استفاده از یک قطره محلول اسید لاکتیک برای مطالعه تهیه گردید. ضمناً بدلیل محرز بودن بیماریزائی این گونه نیازی به آزمون بیماریزائی آن نیز تشخیص داده نشد.

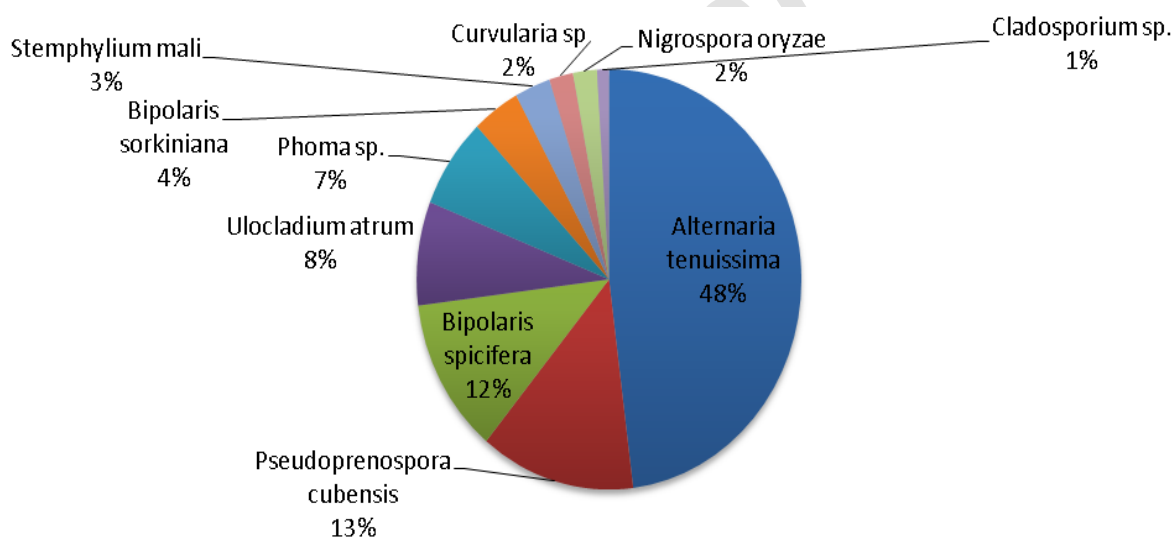
شناسایی جدایه‌ها بر اساس صفات ریخت شناختی

شناسایی بر اساس ویژگی‌های ریخت‌شناختی ماکروسکوپی و میکروسکوپی با استفاده از کلیدهای شناسائی مربوط به هرکدام از جنس های قارچی انجام گرفت. برای این کار هر کدام از جدایه‌های قارچی بسته به گروه یا جنس قارچی در محیط‌های غذایی خاص کشت گردید و برای تعیین هویت در شرایط ویژه نگهداری شد به نحوی که برای توصیف و شناسایی جدایه های قارچی در این تحقیق شرایط پیشنهادی

¹Potato carrot agar



شکل ۱- انواع لکه برگ‌های نمونه برداری شده از مزارع خیار در شرایط طبیعی. A علائم ناشی از *Alternaria tenuissima* B. علائم ناشی از *Bipolaris spicifera* C. *Pseudoprenospora cubensis* D. *Stemphylium mali* E. *Alternaria atrum* F. *Curvularia sp.* G. *Cladosporium sp.* H. اسپورانژیوم‌های ارغوانی مایل به سیاه گونه *Pseudoprenospora cubensis* در قسمت تحتانی برگ.



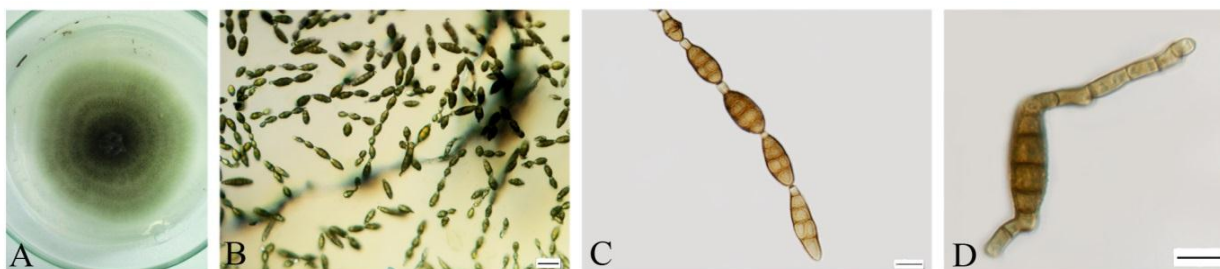
شکل ۲- درصد جدایه‌های جداسازی شده در این تحقیق.

عرضی و سطح آنها صاف تا زگیل‌دار بود. قطر ریشه-های غوطه‌ور در محیط کشت ۴-۹ میکرومتر و قطر ریشه‌های هوایی ۳-۴ میکرومتر اندازه‌گیری شد. کنیدیوم‌برها ساده و اغلب در قسمت انتهایی فاقد انشعاب و بعضاً دارای خمیدگی‌های زانویی در انتها بود. طول کنیدیوم‌برها تا ۱۲۰ میکرومتر و دارای ۳-۴ دیواره‌ی عرضی بودند. رنگ آنها، قهوه‌ای مایل به زرد تا قهوه‌ای تیره بود. کنیدیوم‌ها بصورت زنجیره‌های

خود نشان دادند. قطر پرگنه‌های ۷ روزه بین ۴ تا ۶ سانتی متر متغیر و حاشیه‌ی پرگنه‌ها صاف بود. ریشه‌ها در سطح و درون محیط کشت نفوذ کرده و در اغلب جدایه‌ها ریشه‌های هوایی قابل رؤیت بودند. در بیشتر جدایه‌ها تعداد چهار دایره متحدالمركز رویشی و اسپورزایی مشخص پس از هفت روز ایجاد شد. پرگنه این قارچ روی محیط کشت PCA به رنگ قهوه‌ای تیره تا سیاه، ریشه‌ها منشعب، نیمه شفاف دارای دیواره‌ی

اندازه ۱۲-۱۰×۴۰-۳۰ میکرومتر، با دو تا هشت دیواره عرضی و به ندرت یک تا دو دیواره طولی بودند. نوک کنیدیومها به رنگ شفاف تا نیمه شفاف و به ابعاد ۳-۵×۳ میکرومتر می شد (شکل ۳).

بلند غیرمنشعب روی کنیدیوم بر تشکیل شده و در هر زنجیره تعداد ۸-۱۲ کنیدیوم شمارش گردید. کنیدیوم بر ثانویه به ندرت تشکیل شد و طول آن تا ۱۲-۱۰ میکرومتر اندازه گیری شد. کنیدیومها دارای سطح صاف یا منقوط اغلب تخم مرغی تا بیضوی کشیده با

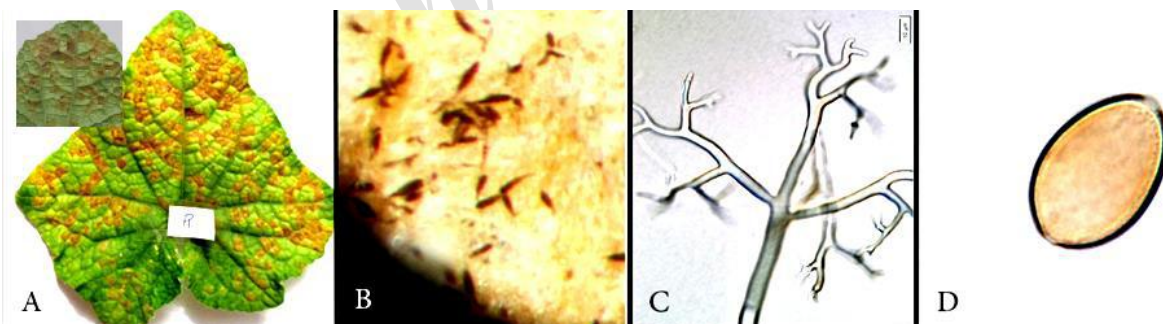


شکل ۳- A. پرگنه هفت روزه گونه *Alternaria tenuissima* روی PCA. B. الگوی اسپورزایی. C. زنجیره کنیدیوم ساده. D. کنیدیوم بر ثانویه.

ابعاد ۵×۴۰-۱۸۰ میکرومتر است. اسپورانژیومهای لیمویی شکل تا بیضی یا تخم مرغی و در انتها دارای پاپیل است. رنگ اسپورها قهوه ای روشن مایل به ارغوانی است. ابعاد آن ۲۰-۳۹×۲۸-۱۴ میکرومتر است (شکل ۴).

Pseudoperonospora cubensis (Berk. & M.A. Curtis) Rostovzev, *Annals Inst. Agron. Moscow* 9: 47 (1903)

ویژگی های ریخت شناختی این گونه با استفاده از کلید شناسایی (اوجیامبو، ۲۰۱۲) توصیف شد. اسپورانژیوم برهای شفاف که در گروه های ۵-۱ تایی از استوماتا بیرون می آید و انشعابات دوشاخه و به



شکل ۴- A. علائم سفیدک درونی خیار. B. اسپورانژیومهای تیره در بخش تحتانی برگ. C. اسپورانژیوم بر منشعب و دوشاخه گونه *Pseudoperonospora cubensis*. D. اسپورانژیوم تخم مرغی با بزرگنمایی ۱۰×.

جدول ۱- خصوصیات ریخت‌شناختی سایر عوامل قارچی دخیل در لکه برگ‌گی خیار در استان آذربایجان شرقی.

| نام جدایه قارچی | مشخصات پرگنه | مشخصات کنیدیوم بر | کنیدی |
|-----------------------------|--|--|--|
| <i>Bipolaris spicifera</i> | رنگ پرگنه سبز زیتونی مایل به قهوه‌ای تیره | کنیدیوم‌برها منفرد، چندیاخته‌ای، با سطح صاف، فاقد انشعاب یا بندرت دارای یک انشعاب | کنیدیوم‌ها راست، بیضوی به رنگ قهوه‌ای روشن تا قهوه‌ای با سه بند کاذب |
| <i>Alternaria atrum</i> | رنگ پرگنه زیتونی تیره با قابلیت تولید هاگ فراوان | کنیدیوم‌برها به رنگ روشن، در پایه روشن‌تر از قسمت بالایی، کوتاه، ساده و غیرمنشعب | کنیدیوم‌ها قهوه‌ای روشن تا تیره، صاف تا زگیل‌دار، شکل متغیر، کروی، تخم‌مرغی، یا بیضوی، دارای ۱-۲ دیواره طولی و یک دیواره عرضی |
| <i>Phoma sp.</i> | رنگ پرگنه خاکستری مایل به سفید با میسلیم‌های هوایی کم، پیکنیدیوم‌ها کروی تا نیم کروی به رنگ تیره مایل به سیاه و با یک استیول پاییل مانند | کنیدیوم‌برها آمپولی یا گلابی شکل | کنیدیوم‌ها به رنگ شفاف، بیضوی، بدون دیواره و به ابعاد ۳×۷-۵ میکرومتر |
| <i>Bipolaris sorkiniana</i> | پرگنه به رنگ سبز مخملی، دارای حاشیه موج‌دار و به شکل دوایر متحد‌المركز | کنیدیوم‌برها به شکل سیمپودیال، سطح آنها صاف، دارای دیواره عرضی و بعضی زائویی‌شکل، رنگ آنها قهوه‌ای روشن، | کنیدیوم‌ها دوکی و بیضوی، به رنگ سبز زیتونی و قهوه‌ای کم رنگ، دارای ۱۱-۳ دیواره عرضی کاذب |
| <i>Stemphylium mali</i> | پرگنه سفید مایل به کرم تا خاکستری، سطح پرگنه پنبه مانند، میسلیم‌های سطحی مشخص | کنیدیوم‌برها منفرد، غیرمنشعب، کوتاه، استوانه‌ای، دارای دیواره عرضی | کنیدیوم‌ها بصورت منفرد انفرادی، در پایه گرد و کروی، دارای ۴-۲ دیواره عرضی، و ۸-۳ دیواره طولی و جانبی یا مورب |
| <i>Pleospora sp.</i> | پرتیسیم‌ها سیاه، کروی تا نیمه-کروی | آسک‌ها استوانه‌ای، ۴۰-۳۵×۱۶۰ میکرومتر، دارای پایه کوتاه و حاوی ۸ آسکوسپور توتی شکل با دو لایه دیواره کاملا مشخص | آسکوسپوره‌های بالغ کنیدیوم‌ها قهوه‌ای مایل به زرد، کنیدیوم‌ها توتی شکل یا بیضوی کشیده، در قسمت قاعده گرد و در انتها گنبدی |
| <i>Curvularia sp.</i> | رنگ پرگنه تیره مایل به خاکستری، و رشد منظم به طرف حاشیه‌ها | کنیدیوم‌برها شفاف، دارای دیواره عرضی و کنیدی‌زائی بصورت زیگزاگی روی کنیدیوم‌بر | کنیدیوم‌ها برنگ قهوه‌ای تا قهوه‌ای تیره، به شکل تخم-مرغی که دیواره آن در قسمت میانه ضخیم‌تر از کناره‌ها |
| <i>Nigrospora oryzae</i> | پرگنه خاکستری کم رنگ مایل به زیتونی، در قسمت سطحی مایل به کرم به صورت مخملی | کنیدیوم‌برها به رنگ شفاف، دارای دیواره عرضی و در رأس متورم، سلول کنیدی-زا به صورت مونوبلاستیک، شفاف و به شکل فلاسک | کنیدیوم‌ها به شکل بیضوی، رنگ آنها کاملا تیره، سطح صاف و منفرد |
| <i>Cladosporium sp.</i> | سبز زیتونی و در حاشیه خاکستری مایل به زیتونی، پشت پرگنه به رنگ خاکستری تا سربی، سطح پرگنه بصورت مخملی با حاشیه منظم | کنیدیوم‌برها ماکرو- و میکرونماتوس، انفرادی، به صورت انتهایی و جانبی. راموکنیدی شفاف تا نیمه شفاف، گاهی قهوه‌ای مایل به زیتونی. سلول‌های کنیدی‌زا به صورت مجتمع | کنیدیوم‌ها زنجیره‌های منشعب و غیر منشعب، شفاف مایل به قهوه-ای زیتونی، صاف، با دیواره نازک. قطر هیلوم ۲-۰/۵ میکرومتر، ضخیم و تیره رنگ |

آزمون بیماریزائی

نموده و کشت مجدد قطعات برگ های گیاهان مایه زنی شده منجر به جدا سازی گونه های قارچی مایه زنی شده گردید. مضافاً اینکه گونه های *B. spicifera* و *N. oryzae* برای اولین بار بعنوان عامل لکه برگی خیار معرفی می گردند.

نتایج حاصل از آزمون بیماریزائی جدایه منتخب از هر کدام از گونه های جداسازی شده در جدول ۲ درج گردیده است. همانطوریکه جدول مذکور نشان می دهد تمام گونه های جدا سازی شده از لکه برگی های گیاهان خیار بیماریزایی خود را در آزمون بیماریزائی ثابت

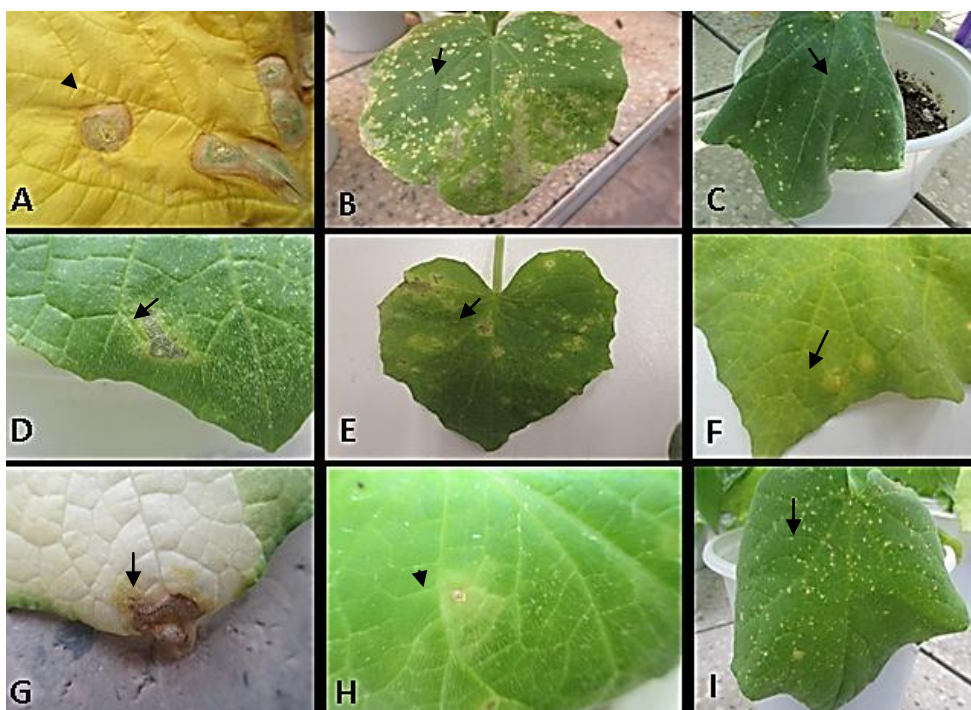
جدول ۲- نشانه های لکه برگی بر روی برگ های گیاهان مایه زنی شده در آزمون بیماریزائی.

| نام گونه ی قارچی مایه زنی شده | نشانه های ظاهر شده |
|-------------------------------|--|
| <i>Alternaria tenuissima</i> | ظهور لکه های سایه روشن بشکل دواير متحد المركز ۳-۱ روز بعد از مایه زنی. |
| <i>Bipolaris spicifera</i> | ظهور لکه های کلروزه مایل به سفید هفت روز بعد از مایه زنی و بزرگ و نکروزه شدن لکه بعد از ۱۰ روز از مایه زنی. |
| <i>Bipolaris sorokiniana</i> | ظهور لکه های منفر زرد رنگ هفت روز بعد از مایه زنی بر روی برگ های پائینی، پیوستن لکه به همدیگر و تیره تر شدن رنگ ها توام با تولید حاشیه ای سبز در اطراف لکه ها ۱۰ روز بعد از مایه زنی |
| <i>Alternaria atrum</i> | ظهور لکه های کلروزه هفت روز بعد از مایه زنی و در نهایت بلایت و سوختگی برگ ها. |
| <i>Phoma sp.</i> | ظهور لکه های سفید نسبتاً وسیع ۱۰ روز بعد از مایه زنی و نکروز تدریجی بافت لکه ها. |
| <i>Stemphylium mali</i> | ظهور لکه های حلقوی زرد رنگ توام با حاشیه نسبتاً عریض برنگ لیمویی چهار روز بعد از مایه زنی و تیره نکروزه شدن تدریجی آن ها از روز دهم مایه زنی. |
| <i>Curvularia sp.</i> | ظهور لکه های حلقوی نکروزه با مرکز نسبتاً تیره هفت روز بعد از مایه زنی. پیوستن لکه به همدیگر و خشک شدن آن ها از روز دهم. |
| <i>Nigrospora oryzae</i> | ظهور لکه های زرد تاوولی شکل ۱۰ روز بعد از آلودگی در روی برگ های خیار بعنوان میزبان جدید این گونه معرفی می گردد |
| <i>Cladosporium sp.</i> | ظهور لکه های سبز مایل به زرد چهار روز بعد از مایه زنی و بدنبال آن آب سوخته و خشک شدن بافت لکه ها ۱۰ روز بعد از مایه زنی |

بحث

سایروفیت و پارازیت گیاهی است که از سراسر دنیا بعنوان آلوده کننده محصولات گیاهی گزارش شده است. گونه های آلترناریا دامنه ی میزبانی وسیعی داشته و با ایجاد بیماری های مهم مانند شانکر ساقه، بلایت یا لکه برگی موجب وارد شدن خسارات قابل توجه روی اغلب گیاهان می شوند (زوما، ۲۰۰۳).

در این بررسی گروه های قارچی متعددی از برگ های با علایم لکه برگی جداسازی شد. گونه *Alternaria tenuissima* با ۴۸ درصد به عنوان غالب ترین عامل قارچی دخیل در لکه برگی خیار در استان آذربایجان- شرقی شناسایی شد. جنس آلترناریا شامل گونه های



شکل ۵- نشانه‌های لکه برگ ناشی از مایه‌زنی جدایه‌های قارچی در شرایط گلخانه‌ای: A. *Alternaria tenuissima*. B.

Nigrospora F. *Curvularia* sp. E. *Cladosporium* sp. D. *Bipolaris spicifera*. C. *Bipolaris sorkiniana*. *Alternaria atrum*. I. *Stemphylium mali*. H. *Phoma* sp. G. *zae*

استان بعنوان عامل اصلی بیماری لکه‌برگی خیار جداسازی و شناسایی شد.

گونه *Pseudoperonospora cubensis* عامل بیماری سفیدک کرکی جالیزیان با فراوانی ۱۳ درصد به عنوان دومین گونه قارچی غالب دخیل در بیماری لکه برگ خیار در استان آذربایجان شرقی شناخته شد. این بیماری در همه مناطقی که گیاهان تیره کدویان کاشته می‌شوند انتشار داشته و در شرایط مزرعه‌ای، گلخانه و یا کشت‌های زیر پوشش پلاستیکی ایجاد آلودگی می‌کند و در مناطق استوایی، بعضی از مناطق نیمه خشک مانند جنوب ایالات متحده، خاورمیانه، اروپا، ژاپن، استرالیا و جنوب آفریقا انتشار دارد (پالتی و هرنث، ۱۹۸۰). این بیماری بر روی خیار، خربزه و هندوانه از تایوان نیز گزارش شده است (تسای و لو، ۱۹۹۲). در ایران در اکثر نقاط با آب و هوای مرطوب به ویژه روی خیار شیوع دارد و امروزه با گسترش سطح کشت گلخانه‌ای و پیش‌رس کردن محصول خیار و نیز به واسطه قدرت بالای بیماری‌زایی و تولیدمثلی، قارچ عامل بیماری به سرعت گسترش یافته و خسارت قابل توجهی به محصول در

در ایران گزارش‌های متعددی از گونه‌های آلترناریا ارئه شده است گونه‌ی *Alternaria tenuissima* از روی خیار گزارش شده است (ارشاد، ۲۰۰۹). این گونه که به عنوان عامل بیماری لکه‌موجی سیب‌زمینی و گوجه‌فرنگی از کانادا معرفی شده است، دامنه‌ی میزبانی وسیعی داشته و در دنیا از روی گیاهان لوبیا، دانه برنج، سورگوم، ارزن، بنفشه، گردو، فندق، گندم، انبه، نخود، مرکبات، سوختگی سرشاخه‌های سیب قرمز، تاج خروس، ذغال‌اخته، برگ برنج، برگ چای، برگ چغندر، برگ توتون، برگ سویا، برگ کاهو، زنبق، میوه کاج، فلفل، توت فرنگی، پسته، کاکتوس، سیب‌زمینی، چمن، گوجه‌فرنگی، یونجه، مرکبات، بادمجان و آمارانتوس گزارش شده است (طاهری اردستانی، ۱۳۸۸). همچنین این گونه به عنوان عامل پوسیدگی میوه سیب از امریکا و آفریقای جنوبی گزارش شده است (کو و همکاران، ۲۰۱۴). در این تحقیق نیز باتوجه به بررسی‌ها و توصیف انجام پذیرفته این گونه از روی برگ‌های خیار جمع‌آوری شده از مزارع خیار

شرایط مزرعه و گلخانه در مراحل مختلف رشد گیاه وارد می‌کند (رنجبر و همکاران، ۱۳۸۷).

سایر گونه‌های قارچی که با فراوانی کمتر از برگ‌های خیار با علایم لکه برگی از مزارع استان آذربایجان شرقی جداسازی شدند بترتیب فراوانی؛ شامل *Bipolaris spicifera*، *Phoma atrum*، *Alternaria sp.*، *Stemphylium sorkiniana*، *Bipolaris mali*، *Nigrospora curvularia* sp.، *Curvularia mali*، *Cladosporium sp.* هستند.

گونه‌های مختلف جنس *Bipolaris* در دو گروه مختلف قرار می‌گیرند. در گروه اول گونه‌هایی با کنیدیوم های واجد بیش از هفت بند کاذب که گروه بیماری‌گرهای مهم گیاهان زراعی را تشکیل می‌دهند و در گروه دوم کنیدیوم های با کمتر از هفت بند کاذب مانند *B. spicifera* به همراه گونه‌هایی از جنس *Curvularia* قرار می‌گیرند (احمدپور و همکاران، ۱۳۹۱). چندین گونه مختلف از جنس *Bipolaris* از روی گیاهان مختلف از ایران گزارش شده است (ارشاد، ۲۰۰۹). *B. spicifera* از روی بیش از ۷۰ گیاه میزبان گزارش شده است. برخی گونه ها مانند *B. sorkiniana*، *B. maydis* و *B. oryzae* باعث خسارت اقتصادی به گیاهان مهم از قبیل جو، نرت و برنج می‌شود (احمدپور و همکاران، ۱۳۹۱). در این تحقیق نیز گونه *B. sorkiniana* و *B. spicifera* از لکه برگی های خیار جداسازی و مورد شناسایی قرار گرفتند.

گونه‌های جنس *Alternaria* نیز دامنه‌ی انتشار وسیع داشته و باعث بیماری‌های مهم گیاهان زراعی و درختان میوه می‌شوند (وانگ و همکاران، ۲۰۰۹). در این تحقیق نیز گونه‌ای از *Alternaria* از روی خیار جداسازی شد که از نظر مشخصات ریخت‌شناختی مشابه با گونه *A. atrum* است و با توجه به تطابق ویژگی‌های آن با مشخصات توصیف شده توسط سیمونز (۲۰۰۷) می‌توان آن را به *A. atrum* نسبت داد. گونه‌های مختلف جنس *Phoma* از روی گیاهان مختلف در دنیا گزارش شده اند. *Phoma herbarum* از روی ترشک از امریکا (گرین، ۱۹۶۴) و از روی کاسنی از ارمنستان (سیمونیان، ۱۹۸۱)،

sorghina از روی چسبک از استرالیا (لنی، ۱۹۹۰) و گونه *P. exigua* از روی گل گندم خاردار از روسیه (ویدمر، ۲۰۰۲) و از روی تلخه از ترکیه گزارش شده‌است (تانالی و همکاران، ۲۰۰۳). گونه‌هایی از جنس *Phoma* به عنوان بیماری‌گر گیاهان تیره کدوییان نیز شناسایی شده‌اند. *P. cucurbitacearum* به عنوان عامل بلایت شاخ و برگ هندوانه، خیار و کدو گزارش شده است (کیناث و همکاران، ۱۹۹۵). در جنوب غربی ایالت متحده امریکا این گونه روی خیار بسیار مخرب است (آمند و فاتاک، ۱۹۹۱). گونه‌های *P. lagenaria* و *P. exigua* نیز از روی خیار گزارش شده‌اند (کیناث و همکاران، ۱۹۹۵). در این تحقیق هفت جدایه از جنس *Phoma* از روی لکه-برگی‌های خیار شهرستان شبستر و میانه جداسازی شد. از جنس *Stemphylium* تاکنون تعداد ۳۳ گونه شناسایی شده است (وانگ و همکاران، ۲۰۰۹). گونه‌های جنس *Stemphylium* باعث ایجاد بیماری در انواع گونه‌های گیاهی می‌شوند، مانند پوسیدگی سیاه هویج که عامل آن *S. radicinum*، بیماری لکه‌برگی یونجه ناشی از *S. botryosum* و لکه خاکستری گوجه‌فرنگی که توسط *S. solani* ایجاد می‌شود. علاوه براین، گونه‌های دیگری هم به عنوان بیماری‌گر درختان میوه شناسایی شده‌اند (شیشکوف و لوربیر، ۱۹۸۹). در سال‌های ۲۰۰۵ الی ۲۰۰۸ از کره جنوبی لکه‌برگی‌هایی از درختان سیب و گلابی جمع‌آوری شدند که عامل آنها دو گونه از جنس *Stemphylium* یعنی *S. mali* و *S. pyrinum* تشخیص داده شدند (وانگ و همکاران، ۲۰۰۹). در این تحقیق نیز با توجه به ویژگی‌های صفات بررسی شده، گونه *S. mali* جداسازی شده از روی برگ‌های خیار از شهرستان شبستر مورد شناسایی قرار گرفت. قبلا گونه‌های دیگری از این جنس روی خیار گزارش شده بودند که در سال‌های ۲۰۱۱ و ۲۰۱۲ اولین گزارش از بیماری لکه‌برگی ناشی از *S. solani* روی خیار شناخته شد (واکالوناکیس و مارکاکیکس، ۲۰۱۳). تفاوت این دو گونه از نظر ریخت-شناختی می‌باشد بطوریکه ابعاد کنیدیوم‌های گونه اخیر بزرگتر از گونه *S. mali* است. ابعاد کنیدیوم‌ها در گونه *S. solani* ۲۸۵-۱۸×۵۵-۳۵ میکرومتر و طول کنیدیوم‌بر

www.SID.ir

مشخصات توصیف شده توسط وو و همکاران (۲۰۱۴) برای گونه *N. oryzae* مطابقت داشت و به همین جهت می توان گونه جدا شده را *N. oryzae* تلقی کرد.

گونه های قارچ *Cladosporium* در سراسر جهان انتشار دارند. اسپورهای آنها در خاک، آب و هوا پیدا می شوند. در گیاهان زراعی و غلات باعث ایجاد لکه های سیاه و روی کدویان باعث ایجاد اسکب، در گوجه-فرنگی باعث لکه های قهوه ای روی برگها می شوند. همچنین گونه های جنس *Cladosporium* می توانند باعث بیماری هایی مانند آسم در انسان شوند (اوگورک و همکاران، ۲۰۱۲). گونه *Cladosporium cucumerinum* که عامل اسکب خیار می باشد انتشار جهانی دارد (به، ۱۹۴۸). در این تحقیق گونه ای از *Cladosporium* از روی لکه برگی خیار از شبستر جداسازی شد که شناسائی آن براساس داده های ریخت شناختی امکان پذیر نبود.

نتایج تحقیق حاضر، نقطه شروعی برای بررسی های بعدی درباره شناسایی عوامل قارچی دخیل در بیماری لکه برگی خیار در مناطق دیگر با توجه به متفاوت بودن شرایط آب و هوایی، بررسی دامنه میزبانی عوامل جداسازی شده و ارزیابی مقاومت ارقام خیار در برابر هر کدام از عوامل دخیل در ایجاد لکه برگی می باشد.

تا بیش از ۲۰۰ میکرومتر و عرض آن ۷-۴ میکرومتر و سلول کنیدی را در رأس کنیدیوم بر متورم، عرض آن ۸-۱۰ میکرومتر می باشد (وانگ و همکاران، ۲۰۰۹، واکالوناکیس و مارکاکیکس، ۲۰۱۳)

جنس *Curvularia* از جنس های مهم خانواده Peleosporeaceae (دارای اسپورهای تیره) و یک گروه بزرگ هتروژنوس می باشند که دامنه میزبانی وسیعی از انسان گرفته تا گیاه را شامل می گردد (کورشی و همکاران، ۲۰۰۶). گونه های این جنس همه جازی بوده و در روی گیاهان مناطقی با دمای معتدل و نواحی استوایی یافت می شوند (مودی و تشن، ۲۰۱۲). در این تحقیق گونه ای از جنس *Curvularia* از روی برگ های خیار جداسازی شد که از نظر ریخت شناختی اسپورها و تعداد دیواره کاذب بسیار شبیه گونه *C. inaequalis* است (سیوانسان، ۱۹۸۷)، اما نیاز به بررسی های بیشتری می باشد چون گونه به دست آمده از نظر ابعاد کنیدی ها با گونه مذکور متفاوت می باشد.

جنس *Nigrospora* به عنوان یک پاتوژن گیاهی اندوفیت شناسایی شده است (فوکوشیما و همکاران، ۱۹۹۸). گونه هایی از این جنس از روی خیار نیز گزارش شده اند از جمله *N. sphaerica* که دامنه میزبانی وسیعی داشته و روی خیار نیز باعث تولید لکه برگی می شود (ماسون، ۱۹۲۷). در این تحقیق مشخصات مورفولوژیکی جدایه جدا شده از روی برگ های خیار با

منابع

- آمارنامه زراعی ۱۳۸۴. سازمان جهاد کشاورزی استان خوزستان، واحد آمار و اطلاعات.
- آمارنامه کشاورزی. ۸۹-۹۰. جلد اول. محصولات زراعی.
- احمدپور، حیدریان ز و کرمی س، ۱۳۹۱. معرفی گونه های جدید از جنسهای *Bipolaris* و *Curvularia* روی گندمیان ایران. رستنیها. (۱) ۱۳. ۸۲-۶۹.
- اسکندری ف، ۱۳۴۳. بیماری های گیاهی در استان های شمالی. مجله بیماری های گیاهی، جلد اول، شماره پنجم. صفحات ۹-۱۵
- اعتباریان ح، ۱۳۷۶. بیماری های صیفی و سبزی و روش مبارزه با آنها. انتشارات و چاپ دانشگاه تهران.
- جلالی ص، نعمت الهی م و فرهادی ع. ۱۳۷۱. تاثیر تاریخ کاشت و خاک پوش های پلی اتیلن در شرایط نیم تونل بر درصد و شدت آلودگی بیماری سفیدک داخلی خیار در اصفهان. مرکز تحقیقات کشاورزی و منابع طبیعی اصفهان.

- رنجبرع، شهریاری د و رافضی ر. ۱۳۸۷. ارزیابی مقاومت ژرمپلاسم خیار به بیماری سفیدک درونی کدوییان *Pseudoperonospora cubensis*. مجله حفاظت گیاهان. جلد ۲۲. شماره ۲.
- طاهری اردستانی س، شریفنبی ب و زارع ر و عباسی مقدم الف. ۱۳۸۸. گونه های جدید *Alternaria* همراه با لکه برگگی سیب زمینی در مناطق مختلف کشت سیب زمینی ایران. بیماری های گیاهی. جلد ۴۵ شماره ۴ صفحات ۳۰۸-۳۰۱.
- Amand PC, and Phatak TC, 1991. Crop loss to 14 diseases of cucumber in North Carolina from 1983 to 1988. Cucurbit Genetics Cooperative. 14: 15-17.
- Aslan J, 2010. *Alternaria* diseases of vegetable crops and new approaches for its control. Biology 1(3): 681-69.
- Beh L, 1948. Histologische unter suchungen an kraetze krankengurken (*Cucumis sativus* L.) unter besonderer beruecksichtigung des Krankheitsverlaufes der Kraetze (*Cladosporium cucumerinum* Ell. Et Arth.) an Fruchten. Phytopathology 15: 92-123.
- Bhargava AK, and Singh RD, 1985. Comparative study of *Alternaria* blight, losses and causal organisms of cucurbits in rajasthan. Plant Pathology 15: 150-154.
- Cohen Y, and Rotem J, 1987. Sporulation of foliar pathogens. Pp: 314-333 In: Pegg, GF and Ayres, P G Fungal infection of Plants. (Eds) Cambridge University Press.
- Ershad D. 2009. Fungi of Iran. 3rd edition. Iranian Research Institution of Plant Protection, 531 pp.
- Fukushima T, Tanaka M, Gohbara M and Fujimoi, T. 1998. Phytotoxicity of three lactones from *Nigrospora sacchari*. Phytochemistry. 48: 625-630.
- Greene HC. 1964. Notes on parasitic fungi XXX". Trans Wisconsin Academic Science. 53: 177-196.
- Keinath AP, Farnham MW and Zitter TA, 1995. Morphological, pathological, and genetic differentiation of *Didymella bryoniae* and *Phoma* spp. isolated from cucurbites. The American Phytopathological Society.
- Kou LP, Gaskins VL, Luo Y G, and Jarick II, WM, 2014. First report of *Alternaria tenuissima* causing post harvest decay on apple fruit from cold storage in the United States. Plant diseases. 98: 5.
- Lebeda A, and Urban J. 2007. Temporal changes in pathogenicity and fungicide resistance in *Pseudoperonospora cubensis* populations. ISHS Acta Horticulturae 731: 327-336.
- Lenne JM. 1990. World List of Fungal Diseases of Tropical Pasture species. Phytopathology. 31: 1-162
- Mamgain A, Roychowdhury R, and Tah J, 2013. *Alternaria* pathogenicity and its strategic controls. Biology. 1: 1-9.
- Mason E V, 1927. *Nigrospora sphaerica*. Transactions of the British Mycological Society. 12: 158.
- Moody MN, and Tschien J, 2012. Cutaneous *Curvularia* infection of the forearm. Cutis. 89: 65-68.
- Ogork R, Lejman A, and Pusz W, 2012. Characteristics and taxonomy of *Cladosporium* fungi. Mycologia, 19 (2): 80-85.
- Ojiambo S, 2012. Epidemiology of cucurbit Downy Mildew: effects of weather variables on infection parameters and disease severity and source strength relationships. North Carolina State University.
- Palti J, and Henneth R, 1980. Distribution of Downy Mildew Fungi Over the orders, Families and Genera of Higher Plants. Spencer, DM (ed). The Downy Mildew. Academic Press. London. Pp. 110-112.
- Qureshi S, Wani SA, and Beg S, 2006. *Curvularia dermatomycosis* in jersey heifer: A Case Report Pakistan Veterinary Journal 26(3): 149-150.
- Shishkoff N and Lorbeer JW, 1989. Etiology of *stemphylium* leg blight on onion. Phytopathology. 79: 301-304.

- Simmons EG, 2007. *Alternaria*. An identification manual. CBS Biodiversity Series 6. CBS Fungal Biodiversity Centre, Utrecht, The Netherlands.
- Simonyan SA. 1981. [Mycoflora of Botanical Gardens and Arboreta in Armenia.]. Hayka. 232 PP.
- Sivanesan A, 1987. Graminicolous species of *Bipolaris*, *Curvularia*, *Drechslera*, *Exserohilum* and their Telemorphs, p: 261. CAB International Mycological Institute, UK.
- Thomas CE, 1996. Downy mildew. In: pp. 25-27. Compendium of Cucurbit Diseases. Ithaca, NY: Cornell University Press.
- Thomma B, 2003. *Alternaria* spp.: From general saprophyte to specific parasite. Molecular Plant Pathology 4 (4): 226-236.
- Tsai WH and Lo CT, 1992. Ecology and control of downy mildew on cucurbits. Plant Protection Bulletin Taipei 34(2): 149-161.
- Tunali B, Eskandari FM, Berner DK, Farr DF and Castlebury LA. 2003. First report of leaf blight caused by *Phoma exigua* on *Acroptilon repens* in Turkey. Plant Disease 87(12): 1540
- Vakalounakis DJ, and Markakis EA, 2013. First report of *Stemphylium solani* as the causal agent of a leaf spot on greenhouse cucumber. Plant Disease 2(97): 287-287.
- Wang Y, Hong-Bo FU and Nichole NR, 2009. Two new species of *Stemphylium* from Northwest China. Mycological Progress 8(4): 301-304.
- Widmer T. 2002. First report of *Phoma exigua* on *Centaurea solstitialis* (Asteraceae) in Russia. Plant Disease 86(8): 922.
- Wu J B, Zhang C L, Mao P P, Qian Y S and Wang H Z, 2014. First Report of Leaf Spot Caused by *Nigrospora oryzae* on *Dendrobium candidum* in China. Plant Disease 98 (7) 996 .

Archive of SID

Identification and Pathogenicity of Fungi Causing Cucumber (*Cucumis sativus* L.) Leaf Spot Disease in East Azerbaijan Province

F Eghbali¹, A Babai-Ahari^{2*} and M Arzanloo³

¹Fomer MSc Student, Department of Plant Protection, University of Tabriz.

²Professor, Department of Plant Protection, University of Tabriz.

³Associate Professor, Department of Plant Protection, University of Tabriz.

*Corresponding author: ababaihari@yahoo.com

Received: 27 Sep 2015

Accepted: 16 April 2016

Abstract

Leaf spot disease is known as one of the limiting factors in cucumber cultivation in east Azarbaijan province and causes major damages on the crop yield annually. Purpose of the current study was to monitor leaf spot disease of cucumber in East Azerbaijan province and identify the pathogenic fungal species using morphological data. To this purpose, sampling was carried out during summer 2013 from main cucumber production areas of Shabestar, Ahar, Myianeh and Basmenj regions. During this research, a total of 90 samples were collected and 100 fungal isolates were isolated from infected samples that had various symptoms of leaf spot. Results of the present study confirmed that the leaf spot symptoms were caused by different fungal species in the provincial farms. By morphological study and investigation of macroscopic and microscopic features, the fungal species of *Stemphylium mali*, *Ulocladium atrum*, *Cladosporium* sp., *Nigrospora oryzae*, *Bipolaris sorkiniana*, *Phoma* sp., *Pseudoperonospora cubensis*, *Bipolaris spicifera*, *Curvularia* sp., *Alternaria tenuissima* were identified as the causal agent of cucumber leaf spot disease. Among the identified species, isolates of *Alternaria tenuissima* and *Pseudoperonospora cubensis* were more frequent than others with 48% and 13% isolation frequencies, respectively.

Keywords: Cucumber fungal leaf spot, East Azarbaijan Province, *Alternaria*, *Pseudoperonospora*.